

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02514

研究課題名(和文)細胞内物質移動の観察を目指した希土類添加表面修飾蛍光酸化物ナノ結晶の合成

研究課題名(英文) Synthesis of rare-earth doped surface-modified metal oxide nanoparticle to investigate the mass transfer in cells

研究代表者

高見 誠一 (Takami, Seiichi)

名古屋大学・工学研究科・教授

研究者番号：40311550

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究より、紫外線やX線照射下で蛍光を示す希土類添加金属酸化物ナノ粒子を水熱合成する条件を見出した。合成された粒子は30-40 nm程度の粒径を有し、焼成過程を経ていないので有機分子の共存下で合成することで表面修飾および分散性の制御もできることを確認した。希土類元素を変えることで発光スペクトルも制御でき、これら粒子は動物細胞内における物質移動などのトレーサーなどとして用いることが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来、多くの蛍光体は高温焼成プロセスで合成されてきたが、生成した粒子サイズが大きいという問題点があった。また、溶液中における化合物半導体ナノ粒子の合成も研究されてきたが、毒性を示すものも多かった。本研究では、高温高压水中で比較的安定かつ安全な酸化物粒子を合成することに成功した。さらに、高原子番号のルテチウム含むLu3Al5O12ナノ粒子を合成することで、X線照射下での蛍光を実現している。

研究成果の概要(英文)：This research realized the synthesis of rare-earth doped metal oxide nanoparticles that show luminescence under UV-light or X-ray irradiation. The size of the produced nanoparticles were 30-40 nm. Because the nanoparticles were synthesized without calcination process, we can perform organic surface modification during synthesis to improve dispersibility. The luminescence spectra depended on the doped rare-earth elements. The produces nanoparticles are expected to be used as a tracer in animal cells.

研究分野：化学工学

キーワード：蛍光ナノ粒子 金属酸化物 希土類添加 水熱合成 表面修飾

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物細胞は 10~30 μm 程度の大きさを持ち、核や粗面小胞体など様々な小器官を有する。小器官では生体活動、すなわち物質輸送・化学反応・濃縮が生じており、ミクロレベルの反応装置と言える。その役割を知るため、細胞を破碎、分画、染色して構造を観察するアプローチが取られてきたが、細胞を破壊した後に電子顕微鏡で観察するものであり、生きた動物細胞内における物質移動など動的挙動の解明には困難な点があった。

以上のように生きた動物細胞内の動的挙動を知る手段が限られている一方、その重要性は明らかである。動物細胞内および小器官間において、どのような物質移動が生じているのかを知ることが、細胞内における動的平衡の理解という理学的視点から重要である。さらに、例えば細胞内におけるタンパク質生産が拡散律速なのか反応速度律速なのかに応じて培養条件を使い分けたり、律速過程の速度向上を目指した遺伝子組み換えを行うなど、細胞内システムを対象とした化学工学的アプローチを取ることも可能になる。

研究申請者は、細胞内における物質移動を評価する 1 つの方法として、表面修飾酸化ナノ結晶に蛍光を付与し、これをトレーサーとして利用することを着想した。ここで用いるナノ結晶は、細胞内でトレーサーとして用いられるよう十分に小さく必要があり、一方紫外線・X 線照射下で蛍光を示す必要がある。さらに、生体に対して無毒で安定に存在する必要がある。

研究申請者は、これまでに様々な金属酸化ナノ粒子の合成を行っており、原料となる金属塩の選択、反応条件の調整により数十 nm 以下の粒径をもつナノ粒子の合成に成功している。また、複酸化物やドーブを行ったナノ粒子の合成も実現している。

2. 研究の目的

以上の背景のもと、本研究では、生体中で安定な金属酸化ナノ粒子に希土類元素を添加したナノ粒子を合成し、100 nm 以下で蛍光を示すナノ粒子を実現することを目的とした。この目的を実現するには、金属酸化ナノ結晶を結晶性良く合成するとともに、表面欠陥を可能な限り抑制する必要がある。さらに、添加する希土類元素が適切な位置の金属元素と置換される必要がある。これらを実現するためには、合成過程における各金属元素の反応過程の理解、特に温度や pH が反応過程に与える影響や、結晶構造内に複数の金属イオンサイトが存在する場合、水熱合成過程のどのようなファクターが複数の金属イオンの配置決定するのか、理解を進める必要がある。また、サイズの小さなナノ粒子を合成できることが知られている流通式装置を用いた連続合成を行うことを想定すると、その装置内における原料溶液の挙動を知ることも重要となる。以上の検討のもと、本研究では希土類元素添加金属酸化ナノ粒子の合成と蛍光評価を行うとともに、複酸化物における金属イオンのサイト選択要因の評価、さらに流通式装置内における原料水溶液の挙動解明を目的として研究を行った。

3. 研究の方法

3-1 希土類添加金属酸化ナノ結晶の水熱合成

本研究では、 $\text{Lu}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ (LuAG) ないし $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ をホストとする希土類添加金属酸化ナノ結晶の合成条件の探索を行った。ここでは $\text{Lu}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$ について示す。 Lu^{3+} , Al^{3+} イオンおよび Ce^{3+} など希土類イオンを含む水溶液を調製し、1 M の KOH 水溶液を加え pH を調整した。表面修飾のための有機分子は、この反応溶液に加えた。この溶液を内容積 5.0 mL の回分式反応器を用いて各反応温度で 10 分間加熱し、冷却後に生成物を回収、精製した。これを X 線回折 (XRD)、走査電子顕微鏡 (SEM)、動的光散乱法 (DLS)、紫外線照射による蛍光観察で評価した。

3-2 複酸化物における金属イオンの配置選択

スピネル型酸化物を対象とし、2 価イオンとして Co、3 価イオンとして Ga を用いた際に、それぞれの金属イオンの配置が合成条件によってどのように変化するかを明らかにした。硝酸ガリウムと硝酸コバルトを含む水溶液を調製し、ここに 1 M の KOH 溶液を加えることで pH = 2 程度の原料溶液の pH を 3~11 へと上昇させて金属水酸化物を析出させた。その後、回分式容器に原料溶液を封入し 200~400°C、合成時間 1~30 min の条件で加熱した。

3-3 流通式装置内における原料水溶液の挙動解明

流通式水熱合成装置の混合部における原料水溶液の挙動を明らかにするため、中性子ラジオグラフィ測定を行った。室温の原料水溶液と高温の加熱水が混合する挙動を理解するため、混合部に中性子線を照射し、その透過像を観察することで、超臨界水と原料室温水の混合状態を観察した。中性子ラジオグラフィ測定は、京大複合原子力研の B-4 ポート、原研 JRR-3 の 7R 実験孔で行った。さらに、観察に用いた混合部を用いて CeO_2 ナノ粒子の合成実験を行った。合成した粒子は、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて粒径を評価した。

4. 研究成果

4-1 希土類添加金属酸化物ナノ結晶の水熱合成

まず、合成溶液の pH が生成物に与える影響を評価した。ここでは、pH を 7 付近に調整した場合の生成物の XRD パターンを示す。300°C の合成温度では $2\theta=10$ deg. 付近に Lu や Al の水酸化物と考える回折が存在し、LuAG 由来に回折プロファイルは確認できなかった (図 1)。一方、合成温度をこれ以上にすると、LuAG の生成が確認でき、他の結晶相は存在しなかった。

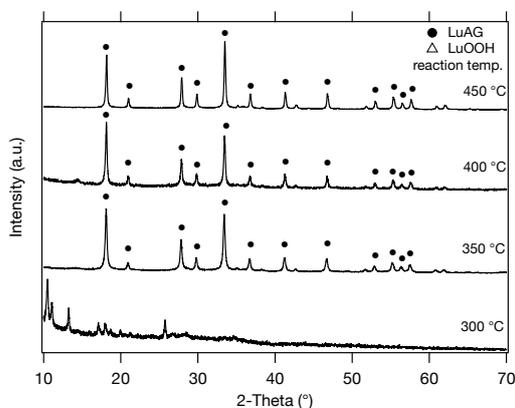


図 1 pH を 7 に調整した前駆体より生成した粒子の XRD パターン

表 1 原料溶液の pH および合成温度が生成物の結晶相に与える影響 (○: LuAG 単相、△: LuAG と複生成物、×: LuAG は得られない)

	pH 5	pH 7	pH 9	pH 11
300 °C	×	×	○	△
350 °C	×	○	○	△
400 °C	△	○	○	○
450 °C	△	○	○	○

同様の評価を他の pH 条件において行った結果を表 1 にまとめる。これより、合成温度の上昇とともに LuAG の単相が生成されるようになること、pH は 9 付近が最適であることが明らかとなった。これより LuAG の合成条件が明らかとなったが、その形状・サイズを評価するために走査電子顕微鏡を用いた観察を行った。原料水溶液の pH を 9 としたときの像を図 2 に示す。生成物は角ばった球状の形状を示し、そのサイズは 30 nm 程度であった。これらの電子顕微鏡像よりサイズの平均値および分散を評価した結果を図 3 に示す。このように、原料水溶液の pH が 9 ないし 11 の場合は、平均粒子径は 30 nm 程度であることが明らかとなった。これより、数十 nm 程度のサイズを有する LuAG ナノ粒子の合成条件を見出すことに成功した。

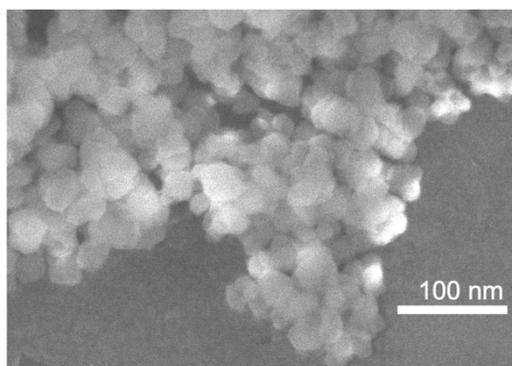


図 2 pH=9, 400°C の条件で合成した粒子の電子顕微鏡像

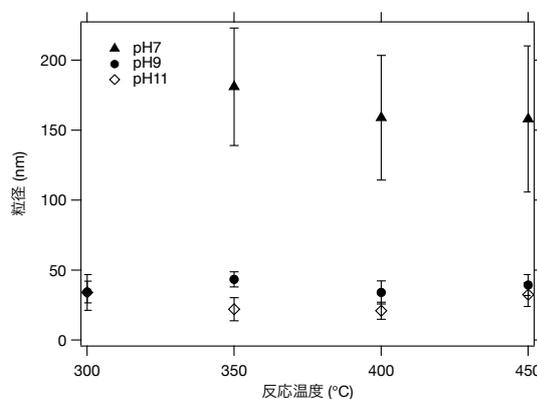


図 3 粒子径の pH および合成温度依存性

続いて本研究では、この LuAG ナノ粒子への Ce イオンの添加を試みた。Ce は 3 価および 4 価の価数を取る一方、既往のバルク蛍光体における研究では Ce は 3 価の状態での蛍光体にドーピングされていることが知られているため、当初は 3 価の Ce イオンを含む原料溶液にギ酸を加えて 4 価への酸化の抑制を試みた。その後、X 線吸収微細構造 (XAFS) 解析法を用い、合成した粒子の Ce L3 端の XAFS スペクトルを評価すると、ギ酸が無くても Ce イオンは主に 3 価を取ること、合成温度が高くなるほど 4 価の状態を取る Ce が増えることが明らかとなった (図 4)。そこで、ギ酸を加えず、Lu, Al イオンおよび Ce イオンを含む原料水溶液より Ce 添加 LuAG ナノ粒子の合成を行った。pH を 9 とした原料水溶液から合成した試料に紫外線を照射した時の可視光像を図 5 に示す。これより、強度としては 350°C で合成した試料からの蛍光が最も顕著であることが明らかとなった。これは、温度上昇に伴って LuAG マトリックスの結晶性向上と Ce イオンの 4 価への酸化が並行して生じ、結果として 350°C の蛍光が顕著になったものと考えられる。

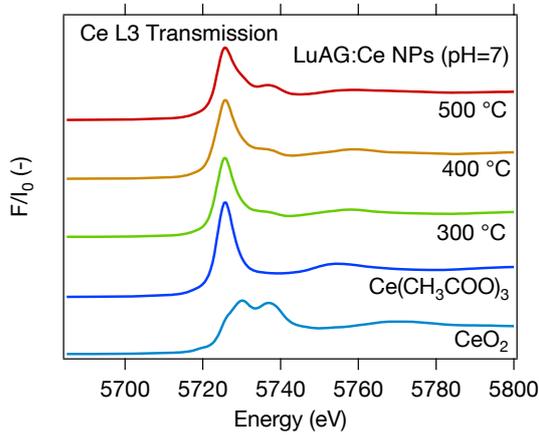


図4 合成した試料の Ce L3 吸収端 XAFS スペクトル

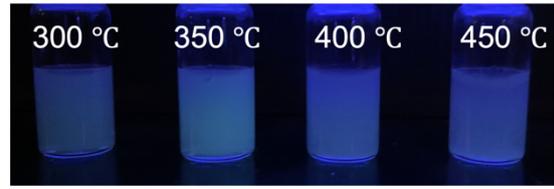


図5 紫外線照射下における Ce ドープ LuAG ナノ粒子の可視光像

これより紫外線照射下で発光し、粒子径が 30 nm 程度の Ce ドープ LuAG ナノ粒子の合成に成功したが、その溶液中分散特性を制御するため、合成された粒子の表面に有機分子を結合する表面修飾を試みた。様々な有機分子を原料水溶液に加え有機分子共存下で合成を行った所、修飾剤無しで合成した LuAG ナノ粒子が水中に良分散するのに対し、オレイン酸共存下で合成した粒子がヘキサン中に分散することが明らかとなった(図6)。これは、オレイン酸が合成した LuAG ナノ粒子の表面に結合し、ナノ粒子の表面化学特性を調節したためと考える。

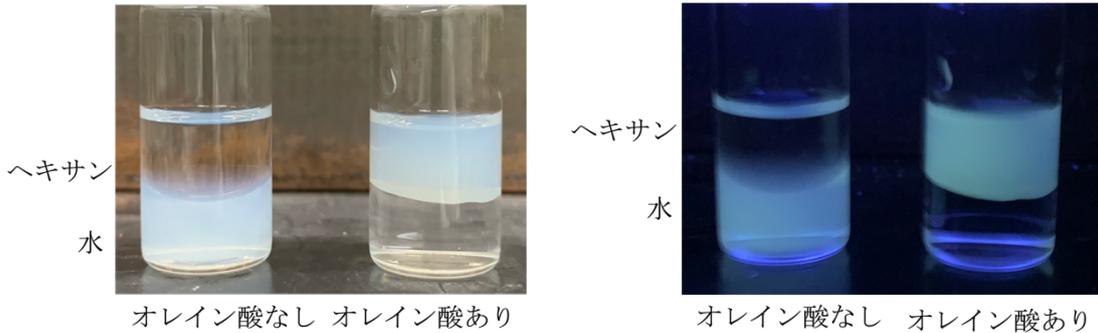


図6 オレイン酸修飾による分散性の制御

4-2 複酸化物における金属イオンの配置選択

上記のように、Ce 元素の場合は原料水溶液への Ce イオンにより LuAG 中への添加と蛍光が確認されたが、一般的には、結晶構造内に複数の金属イオンサイトが存在する場合、水熱合成の条件がどのように金属イオンの配置を決定するのか理解する必要がある。そこで本研究では、広く合成がされているスピネル酸化物を対象として、合成条件と金属イオンの配置との関係性を評価した。対象を CoGa_2O_4 に設定し、同じ結晶構造を持つ $\gamma\text{-Ga}_2\text{O}_3$ の合成を試みた所、水熱合成で合成できること、水中ではより安定相である $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3$ の合成は困難だが、イソプロパノール中では $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3$ まで反応が進行することを確認した。これを受け、 $\gamma\text{-Ga}_2\text{O}_3$ と同様の条件で CoGa_2O_4 を合成すると共に、pH などの条件が CoGa_2O_4 中の金属イオンの配置に与える影響を評価した。XAFS を用いてサイト分布を評価した結果を図7に示す。スピネル構造中の4面体、8面体の各サイトを占める Co, Ga 原子の割合を示しているが、このように pH が変わってもサイト分布は大きく変化しなかった。一方、図中の直線で示している焼結プロセスで合成した試料とサイト分布は大きく異なり、水熱合成プロセスが金属イオンのサイト分布を変えた生成物を合成可能であることが明らかとなった。本実験では、合成過程に生成される中間体である層状水酸化物における金属イオンの構造がサイト分布に影響を及ぼしていることを、中間体の構造の評価により解明しており、中間体の構造の設計や選択により、生成物中の金属イオン配置を制御しうることが明らかとなった。

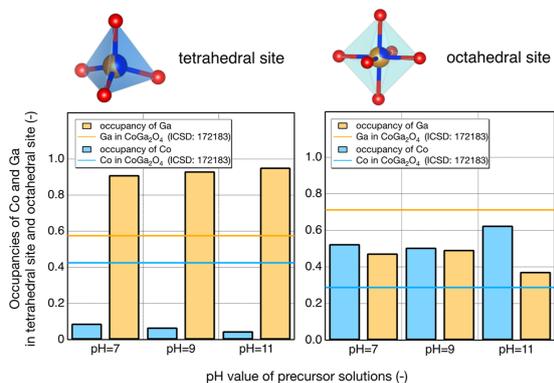


図7 水熱合成した CoGa_2O_4 中4面体、8面体サイトを占める Co, Ga の割合

4-3 流通式装置内における原料水溶液の挙動解明

以上に示すように、本研究では回分式装置を用い合成条件を最適化することで目的とする数十 nm 程度の LuAG 粒子を合成することに成功したが、これと並行して、サイズの小さなナノ粒子の合成に適した流通式装置を用いることを想定し、装置内における原料溶液の挙動の解明を行った。酸化セリウムナノ粒子の水熱合成は 400°C、250 気圧程度の高圧で行われるため、反応器はステンレスで作られ内部の可視化は困難であった。そこで、中性子線を用いてステンレス製反応器内における水密度の分布を評価し、加熱水と室温の水の混合状態を評価した。

まず、これまでに利用してきた Swagelok 1/8 インチの混合部（内径 2.3 mm）において、上方から加熱水、横から原料水溶液を模した室温の純水を供給して混合する過程の可視化を行なった。その結果、図 8 a に示すように、横から供給された室温水は混合部に到達すると、垂直方向の管内の壁を伝って下方に流れ、徐々に混合される様子が明らかとなった。また、横管内の情報に、密度の小さい高温水が流入していることも判明した。このように、内径 2.3 mm という狭い管内においても、その内部で十分に流れが混合しない様子が明らかとなった。そこで、室温水を供給する管として外径 1/16 インチ（内径 1.0 mm）の管を挿入し、これより原料水を供給することを着想し、中性子ラジオグラフィ像を観察した。その結果、室温水は上方から流れる高温水の中央部分に供給され、早い段階で混合されることが明らかとなった（図 8 b）。

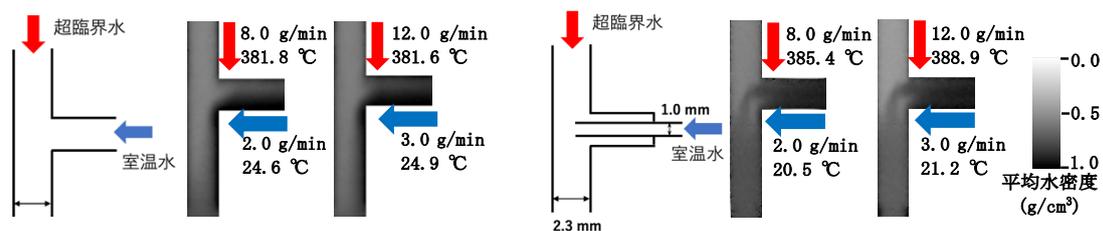


図 8 流通式水熱合成装置の混合部のラジオグラフィ像 (a) 従来の混合部、(b) 1/16 インチ管を挿入した混合部

このような混合過程の違いは、水熱合成により形成されるナノ粒子のサイズに影響を与えるはずである。そこで、上記の 2 種類の混合部を用いて酸化セリウムナノ粒子の合成を行ない、合成された粒子の粒径分布を評価した。上方から供給する高温水の流量 (Q_{SC}) を 8.0 ないし 12.0 g/min、横から供給する室温水の流量 (Q_{RT}) を 2.0~8.0 g/min と変化させ、2 種類の混合部を用いて合成された粒子の平均粒子径を図 9 に示す。

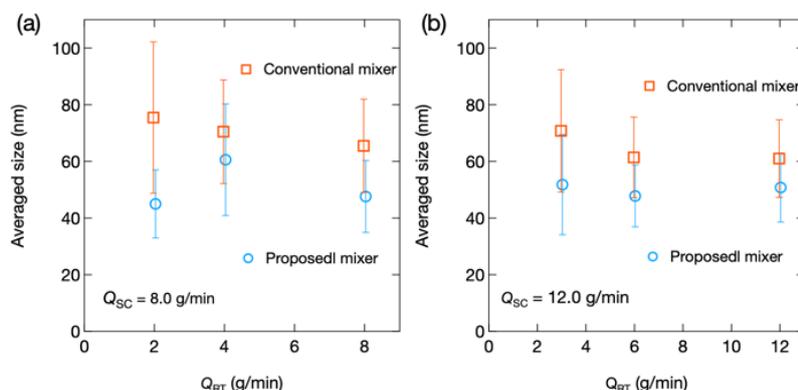


図 9 $Q_{SC} =$ (a) 8.0 g/min, (b) 12.0 g/min の条件で、2 種類の混合部を用いて合成した CeO_2 ナノ粒子の平均粒子径

これより、1/16 インチ管を通じて横から室温水を供給した場合、従来の混合部と比べて粒子径の小さなナノ粒子を合成できることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Xie Bo, Numako Chiya, Naka Takashi, Takami Seiichi	4. 巻 23
2. 論文標題 Supercritical Hydrothermal Synthesis of Spinel-Type Nonstoichiometric Cobalt Gallate Nanoparticles and Their Magnetic Properties	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Crystal Growth and Design	6. 最初と最後の頁 2511 ~ 2521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.cgd.2c01435	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sato Kosei, Sasaki Ryosuke, Xie Bo, Takami Seiichi, Kubo Masaki, Tsukada Takao, Sugimoto Katsumi, Odaira Naoya, Ito Daisuke, Saito Yasushi	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of the mixer shape in a flow-type supercritical hydrothermal reactor as evaluated by neutron radiography and CeO ₂ nanoparticle synthesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Reaction Chemistry and Engineering	6. 最初と最後の頁 1449 ~ 1456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3RE00018D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takezawa Kengo, Lu Jinfeng, Numako Chiya, Takami Seiichi	4. 巻 23
2. 論文標題 One-step solvothermal synthesis and growth mechanism of well-crystallized -Ga ₂ O ₃ nanoparticles in isopropanol	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 CrystEngComm	6. 最初と最後の頁 6567 ~ 6573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CE00728A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Asano Natsuko, Lu Jinfeng, Asahina Shunsuke, Takami Seiichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Direct Observation Techniques Using Scanning Electron Microscope for Hydrothermally Synthesized Nanocrystals and Nanoclusters	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nanomaterials	6. 最初と最後の頁 908 ~ 908
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nano11040908	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Xiaoqian Zhao, Seiichi Takami
2. 発表標題 Sub- and supercritical hydrothermal synthesis of Y3Al5O12 nanoparticles doped with rare earth elements
3. 学会等名 The 19th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高見誠一
2. 発表標題 金属酸化物ナノ結晶の超臨界水熱合成と合成プロセスの理解を目指した 中性子ラジオグラフィ観察
3. 学会等名 日本セラミックス協会 第35回秋季シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Bo Xie, 沼子千弥, 名嘉 節, 高見誠一
2. 発表標題 コバルトガリウム複酸化物ナノ粒子の水熱合成と前駆体pHの影響
3. 学会等名 ナノ学会第20回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 スピネル型ガリウム系複酸化物ナノ粒子の水熱合成における前駆体溶液の影響
2. 発表標題 謝 博, 高見誠一, 沼子千弥, 名嘉 節
3. 学会等名 日本セラミックス協会 第35回秋季シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 In situ Neutron Radiography on the Mixing Behavior in a Flow-type Reactor during Supercritical Hydrothermal Synthesis
2. 発表標題 Seiichi Takami, Ken-ichi Sugioka, Masaki Kubo, Takao Tsukada, Katsumi Sugimoto, Nobuyuki Takenaka, Naoya Odaira, Daisuke Ito, Yasushi Saito
3. 学会等名 The 9th International Topical Meeting on Neutron Radiography (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 非平衡組成を持つ Co-Ga スピネルナノ粒子の超臨界水熱合成
2. 発表標題 謝 博, 沼子千弥, 名嘉 節, 高見誠一
3. 学会等名 化学工学会第88年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Xiaoqian Zhao, Seiichi Takami
2. 発表標題 Sub- and supercritical hydrothermal synthesis of Y3Al5O12 nanoparticles doped with rare earth elements
3. 学会等名 The 19th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小竹淳史, 高見誠一
2. 発表標題 CeドープLuAGナノ粒子の亜臨界・超臨界水熱合成
3. 学会等名 日本セラミックス協会 第34回秋季シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹澤健悟, 高見誠一
2. 発表標題 イソプロパノール中における $\text{-Ga}_2\text{O}_3$ ナノ粒子のソルボサーマル合成
3. 学会等名 日本セラミックス協会 第34回秋季シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Bo Xie, 高見誠一
2. 発表標題 回分式反応器を用いたガリウム系複酸化物ナノ粒子の高温高压溶液中合成
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Bo Xie, Seiichi Takami
2. 発表標題 Synthesis of Gallium Multiple Oxide Nanoparticles in High Temperature and High Pressure Solution using a Batch-type Reactor
3. 学会等名 7th International Solvothermal and Hydrothermal Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高見誠一
2. 発表標題 有機分子表面修飾酸化物ナノ結晶の水熱合成
3. 学会等名 日本セラミックス協会東海支部 第60回東海若手セラミスト懇話会 2020年 秋期講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高見誠一
2. 発表標題 中性子ラジオグラフィ法による流通式水熱合成装置における混合過程の可視化
3. 学会等名 令和 2 年度 中性子イメージング専門研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Seiichi Takami
2. 発表標題 Hydrothermal synthesis of organic-modified metal oxide nanocrystals
3. 学会等名 Advanced Materials. WebCongress on Thin Films, Materials Surface & Interfaces (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	武田 志乃 (Takeda Shino) (00272203)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学研究所 放射線規制科学研究部・グループリーダー (82502)	
研究分担者	沼子 千弥 (Numako Chiya) (80284280)	千葉大学・大学院理学研究院・准教授 (12501)	
研究分担者	佐藤 和好 (Sato Kazuyoshi) (40437299)	群馬大学・大学院理工学府・准教授 (12301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------